

Aus dem Pathologischen Institut
der Justus Liebig-Universität Giessen
(Komm. Direktor: Doz. Dr. G. Beneke)

Altersveränderungen
des Herzklappenbindegewebes im Vergleich
mit Achillessehnengewebe des Menschen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Giessen

vorgelegt von
Ursula M. Teuber
aus Braunau (Sudetenland)

Gießen 1968

1969

Aus dem Pathologischen Institut
der Justus Liebig-Universität Giessen
(Komm. Direktor: Doz. Dr. G. Beneke)

Altersveränderungen
des Herzklappenbindegewebes im Vergleich
mit Achillessehnengewebe des Menschen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

vorgelegt von
Ursula M. Teuber
aus Braunau (Sudetenland)

Gießen 1968

Dekan: Prof. Dr. H. Rettig

Referent: Prof. Dr. G. Beneke

Korreferent: Prof. Dr. H. G. Schwarzacher

Tag der mündlichen Prüfung: 4. Juli 1969



Inhaltverzeichnis

Seite

1.1. Einleitung

1.2. Vorstellung

1.3. Material und Methode

1.3.1. In Dankbarkeit meinen Eltern und

Herrn Dr. med. E. Gäde gewidmet

1.3.2. Aufarbeitung des Materials

Material

1.3.2.1. Aufarbeitung für mikroskopische Untersuchungen

1.3.2.2. Aufarbeitung für cytophotometrische Untersuchungen

1.3.2.3. Aufarbeitung für die Bestimmung des Trockengewichtes und des relativen Viskositätsindex

1.3.2.4. Bestimmung des relativen Viskositätsindex

1.3.2.5. Bestimmung des relativen Viskositätsindex des Kollagenoids

1.3.2.6. Bestimmung des relativen Viskositätsindex des Kollagenoids

1.3.2.7. Bestimmung des relativen Viskositätsindex des Kollagenoids

1.3.2.8. Bestimmung des relativen Viskositätsindex des Kollagenoids

1.3.2.9. Bestimmung des relativen Viskositätsindex des Kollagenoids nach innerer Konsistenz

Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
<u>1,0 Einleitung</u>	1
<u>2,0 Fragestellung</u>	1
<u>3,0 Material und Methode</u>	2
3,1 Untersuchungsmaterial	2
3,2 Gewinnung des Untersuchungsmaterials	3
3,3 Aufarbeitung des Untersuchungsmaterials	4
3,31 Aufarbeitung für mikroskopische Untersuchungen	4
3,32 Aufarbeitung für zytophotometrische Untersuchungen	5
3,33 Aufarbeitung für die Bestimmung des Trockengewichtes und des relativen Wassergehaltes	6
3,34 Bestimmung der säure- und salzlöslichen Fraktionen des Kollageneiweiß	6
3,341 Bestimmung der essigsäurelöslichen Fraktion des Kollageneiweiß	6
3,342 Bestimmung der zitratlöslichen Fraktion des Kollageneiweiß	7
3,343 Bestimmung der natriumchloridlöslichen Fraktion des Kollageneiweiß	7
3,344 Bestimmung der harnstofflöslichen Fraktion des Kollageneiweiß	7
3,35 Bestimmung der löslichen Fraktion des Kollageneiweiß nach thermischer Kontraktion	7

3,351	Versuchsanordnung für Gewebsmaterial von Er- wachsenen	8
3,352	Versuchsanordnung für Gewebsmaterial von Kin- dern	8
3,353	Hydrolyse	8
3,354	Weiterverarbeitung des Hydrolysates	8
3,36	Bestimmung des Hydroxyprolins in Mitralklappen und Achillessehnen	9
3,361	Reagenzien	9
3,362	Bestimmung des Hydroxypro- lins	10
3,4	Bestimmung der spezifischen inneren Oberfläche	11
3,5	Berechnung des Durchmessers der kolla- genen Fibrillen	12
3,6	Berechnung des Volumens des Tropokolla- genmoleküls	13
3,7	Berechnung der Querschnittsfläche des Tropokollagenmoleküls	13
3,8	Berechnung des Durchmessers des Tropo- kollagenmolekülquerschnittes	14
<u>4,0</u>	<u>Ergebnisse</u>	14
4,1	Umfang und Gewicht der Mitralklappe	14
4,2	Morphologie der Mitralklappe	19
4,3	Gehalt der Mitralklappe an Kollagenei- weiß	23
4,4	Makromolekulare Strukturveränderungen in den Mitralklappen	26
4,41	Lösliche Kollageneiweißfraktion nach thermischer Kontraktion	26
4,42	Essigsäurelösliche Fraktion des Kollageneiweiß	26

	<u>Seite</u>
4,43 Zitratlösliche Fraktion des Kollageneiweiß	29
4,44 Natriumchloridlösliche Fraktion des Kollageneiweiß	29
4,45 Harnstofflösliche Fraktion des Kollageneiweiß	29
4,46 Bestimmung der spezifischen in- neren Oberfläche der Dichte, des Fibrillendurchmessers und ande- rer Parameter des Tropokollagen- moleküls	31
4,5 Der DNS-Gehalt der Bindegewebszellker- ne im Mitralklappengewebe	32
<u>5,0 Diskussion</u>	37
5,1 Altersabhängige Veränderungen der kollagenen Fasern	37
5,2 Veränderungen an den Zellkernen	38
<u>6,0 Zusammenfassung</u>	39
<u>7,0 Tabellenanhang</u>	41
<u>8,0 Literaturverzeichnis</u>	46
<u>9,0 Lebenslauf</u>	

1,0 Einleitung

Das Bindegewebe der Herzklappen des Menschen wurde von BÜRGER (1961) als ein Gewebe besonderer Art beschrieben, da es keine eigene Gefäßversorgung besitzt, sich aber ständig im Gegensatz zu anderen sogenannten bradytrophen Geweben im ernährenden Blutstrom befindet.

Wegen dieser besonderen Bedingungen interessieren Untersuchungen über die Altersveränderungen des Herzklappengewebes aus theoretischen und praktischen Gründen. Es war das Anliegen dieser Arbeit, mit verschiedenen Methoden qualitative und quantitative Veränderungen des Herzklappenbindegewebes zu untersuchen, um einen Einblick in den molekularen Strukturwandel in Abhängigkeit vom Lebensalter zu erhalten.

2,0 Fragestellung

Mit den vorliegenden Untersuchungen sollten folgende Fragen bearbeitet werden:

1. Welche altersabhängigen Veränderungen erfolgen am Kollagen der Mitralklappe des Menschen im Vergleich mit dem Kollagen von Achillessehnen?
2. Wie verändern sich altersabhängig die Bindegewebszellkerne im Mitralklappengewebe des Menschen?

3.0 Material und Methode

3.1 Untersuchungsmaterial

Die Untersuchungen erfolgten an 128 menschlichen Mitralklappen und 129 Achillessehnen. Die untersuchten Mitralklappen und Achillessehnen verteilen sich auf folgende Altersklassen (Tab. 1, Tab. 2):

Altersgruppen	Anzahl der untersuchten Mitralklappen
(Neugeborene)	10
0 - 5 Jahre	23
6 - 20 Jahre	4
21 - 30 Jahre	9
31 - 40 Jahre	9
41 - 50 Jahre	10
51 - 60 Jahre	17
61 - 70 Jahre	22
71 - 80 Jahre	20
81 - 90 Jahre	4
Gesamtzahl	128

Tab. 1: Anzahl der untersuchten Mitralklappen pro Altersgruppe

Altersgruppen	Anzahl der unter- suchten Achilles- sehnen
(Neugeborene)	11
0 - 5 Jahre	24
6 - 20 Jahre	6
21 - 30 Jahre	8
31 - 40 Jahre	11
41 - 50 Jahre	11
51 - 60 Jahre	13
61 - 70 Jahre	22
71 - 80 Jahre	18
81 - 90 Jahre	5
Gesamtzahl	129

Tab. 2: Anzahl der untersuchten Achillessehnen pro Alters-
gruppe

3.2 Gewinnung des Untersuchungsmaterials

Nach Eröffnung des linken Herzventrikels wurde der Umfang der Mitralklappe am Anulus fibrosus gemessen. Danach wurden die Klappe am Anulus fibrosus und die Sehnenfäden am Papillarmuskel abgetrennt.

Das Mitralklappengewebe wurde anschließend von Blutkoa-

gula und noch anhaftendem flüssigen Blut gereinigt und sofort das Feuchtgewicht bestimmt. Das Gewebe wurde dann in kleine Stücke geschnitten und für 24 Stunden in einem Glasbehälter in Äthyläther aufbewahrt, der mehrmals gewechselt wurde. Das so extrahierte Gewebe wurde danach bei Raumtemperatur bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Dann erfolgte die Bestimmung des Trockengewichtes. Danach wurde die gewonnene Trockensubstanz in Reagenzgläser gefüllt, mit Parafilm - M - Folie versehen, beschriftet und bis zur Untersuchung bei Raumtemperatur aufgehoben.

Zur Gewinnung des Achillessehngewebes wurde die Haut etwas oberhalb des Ansatzpunktes der Achillessehne am Fersenbein durchtrennt und der Schnitt nach cranial etwa 6 bis 8 cm weitergeführt. Nachdem das Unterhautfett- und bindegewebe entfernt worden waren, wurde die Sehne etwa 1 cm oberhalb ihres Ansatzes durchtrennt und ein 3 bis 4 cm langes Stück entnommen. Nach Säuberung des Sehnenmaterials von Fett- und Bindegewebe wurde auch hier sofort das Feuchtgewicht bestimmt. Das Achillessehnenmaterial wurde in gleicher Weise wie das Herzklappengewebe weiterverarbeitet.

3.3 Aufarbeitung des Untersuchungsmaterials

3.31 Aufarbeitung für mikroskopische Untersuchungen

Mitralklappengewebe von drei Individuen (71,55 und 3 Jahre alt) wurde in 4 %igem, gepuffertem Formalin (LILLIE 1954) 48 Stunden bei Raumtemperatur fixiert. Nach Paraffineinbettung wurden 8 μ dicke Schnitte

hergestellt. Es wurden folgende Färbungen vorgenommen:

1. HE - Färbung
2. van Gieson - Färbung
3. Elastica - Färbung

3,32 Aufarbeitung für zytophotometrische Untersuchungen

Von 2 Mitralklappen (81 Jahre alter Mann und 5 Monate altes Kind) wurden 6 μ dicke Paraffinschnitte hergestellt und nach FEULGEN (Modifikation nach SWIFT 1955) gefärbt. Die Extinktion der Farbstoffkonzentration in den Zellkernen wurde mit einem Zytophotometer (Methode nach SANDRITTER 1958) gemessen. Die Messungen erfolgten bei der Wellenlänge $\lambda = 520$ nm außerhalb des Arbeitsmaximums, da ein großer Teil der Zellkerne im Arbeitsmaximum ($\lambda = 574$ nm) Extinktionen über 0,8 aufwies.

In jedem Zellkern wurden die Extinktionen von 8 verschiedenen Punkten gemessen und aus den 8 Meßwerten der Mittelwert der Extinktionen gebildet. Für die Messungen wurden nur solche Zellkerne verwendet, die nahezu vollständig im Schnitt vorlagen (Prüfung durch Fokussieren). Von jedem Zellkern wurde eine photographische Abbildung angefertigt, das Projektionsbild gezeichnet und die Fläche planimetriert. Die planimetrierten Zellkernflächen wurden auf μ^2 umgerechnet. Dann wurde der Mittelwert der Extinktionen mit der Fläche der Zellkerne multipliziert. Das Produkt stellt die Größe der Arbeitseinheiten ($AE = E \times F$) dar und ist der absoluten

DNS-Menge proportional,

3,33 Aufarbeitung für die Bestimmung des Trockengewichtes und des relativen Wassergehaltes

Von jeder Herzklappe und jedem Achillessehnenstück wurden das Feucht- und das Trockengewicht ermittelt. Daraus ließ sich der relative Wassergehalt berechnen:

$$\text{Wassergehalt (in \%)} = \frac{(\text{Feuchtgew.} - \text{Trockengew.}) \times 100}{\text{Feuchtgew.}}$$

3,34 Bestimmung der säure- und salzlöslichen Fraktionen des Kollageneiweiß

Die Bestimmung der säure- und salzlöslichen Fraktionen des Kollageneiweiß erfolgte jeweils an 10 menschlichen Mitralklappen und Achillessehnen der Altersgruppe 0 - 3 Jahre und 60 - 80 Jahre. Zur Bestimmung wurden 50 mg Trockensubstanz verwendet. Sie wurde bei Herzklappen- und Sehnengewebe von Erwachsenen mit 5,0 ml, bei Gewebe von Kindern mit 3,0 ml der Säure- oder Salzlösung überschichtet.

3,341 Bestimmung der essigsäurelöslichen Fraktionen des Kollageneiweiß

50,0 mg Trockensubstanz wurden mit 5,0 ml bzw. 3,0 ml 0,1 %iger Essigsäure (pH 3,3) überschichtet.

3,342 Bestimmung der zitratlöslichen Fraktion des Kollageneiweiß

Es wurden 50,0 mg Trockensubstanz mit 5,0 ml bzw. 3,0 ml 0,1 m Zitratpuffer (pH 4,0) überschichtet.

3,343 Bestimmung der natriumchloridlöslichen Fraktion des Kollageneiweiß

Die Überschichtung von 50,0 mg Trockensubstanz erfolgte mit 5,0 ml bzw. 3,0 ml einer 0,45 m Natriumchloridlösung (pH 5,4).

3,344 Bestimmung der harnstofflöslichen Fraktion des Kollageneiweiß

50,0 mg Trockensubstanz wurden mit 5,0 ml bzw. 3,0 ml einer 6,0 m Harnstofflösung (pH 8,6) überschichtet. Alle Proben wurden bei + 4°C 48 Stunden aufbewahrt, danach zentrifugiert (1500 U/min, 10 min) und anschließend wurde das Hydroxyprolin im Überstand und Sediment getrennt bestimmt.

3,35 Bestimmung der löslichen Fraktion des Kollageneiweiß nach thermischer Kontraktion

Die Bestimmung erfolgte in Anlehnung an die Methode von VERZÁR und MEYER (1961). Die Untersuchungen wurden an 128 menschlichen Mitralklappen und 129 Achillessehnen durchgeführt.

3,351 Versuchsanordnung für Gewebsmaterial von Erwachsenen

Bei Erwachsenen wurden zur Untersuchung 100,0 mg bzw. 50,0 mg Trockensubstanz verwendet. Die Trockensubstanz wurde mit 6,0 ml Ringerlösung überschichtet. Die Proben wurden dann für 10 min bei 62°C in ein Wasserbad gestellt (thermische Kontraktion) und nach Abstopfung der Reaktion in kaltem Wasser für 20 min bei 3000 U/min zentrifugiert. Überstand und Sediment wurden sorgfältig durch Abgießen getrennt.

3,352 Versuchsanordnung für Gewebsmaterial von Kindern

Zur Untersuchung wurden 10,0 mg Herzklappen- und Achillessehngewebe verwendet. Die Trockensubstanz wurde mit 3,0 ml Ringerlösung überschichtet und die Proben für 10 min bei 62°C in ein Wasserbad gestellt. Die weitere Verarbeitung erfolgte in gleicher Weise wie bei Gewebsmaterial von Erwachsenen.

3,353 Hydrolyse

Überstand und Sediment wurden getrennt in Hydrolysekolben gefüllt und mit 6,0 ml 25 %iger Salzsäure (Erwachsene) bzw. 3,0 ml 25 %iger Salzsäure (Kinder) versehen. Danach erfolgte die Hydrolyse bei 110°C für 20 Stunden.

3,354 Weiterverarbeitung des Hydrolysates

Nach Beendigung der Hydrolyse wurden die Proben filtriert

und die Hydrolysate mit Natronlauge auf pH 6,0 eingestellt. Überstand und Sediment wurden jeweils mit 10,0 ml Azetat-Zitratpuffer (pH 6,0 Erwachsenenmaterial) oder mit 5,0 ml Azetat-Zitratpuffer (pH 6,0 Kindermaterial) versetzt. Das Sediment des Gewebematerials von Erwachsenen wurde mit Aqua dest. auf 100,0 ml aufgefüllt, und von jeder Probe wurden drei Verdünnungen 1 : 4 hergestellt. Der Überstand wurde mit Aqua dest. auf 50,0 ml aufgefüllt. Bei Kindern wurde das Sediment auf 50,0 ml und der Überstand auf 20,0 ml mit Aqua dest. aufgefüllt.

3,36 Bestimmung des Hydroxyprolins in Mitralklappen und Achillessehnen

Die Hydroxyprolinbestimmung erfolgte nach der Methode von STEGEMANN 1958 in der Modifikation von RAUSKOLB 1967.

3,361 Reagenzien

Hydroxyprolin-Standard-Lösung:

besteht aus 5,0 mg 1-Hydroxyprolin/100 ml 0,001 n HCL

0,05 m Chloramin-T-Lösung:

2,82 g Toluolsulfonchloramidnatrium werden in Wasser gelöst und auf 40,0 ml aufgefüllt, dann 60,0 ml Methylglykol (Äthylenglykolmonomethyläther) und schließlich 100,0 ml Azetat-Zitratpuffer pH 6,0 hinzugefügt.

Azetat-Zitratpuffer pH 6,0:

in 500,0 ml Aqua dest. werden gelöst:

50,0 g Zitronensäure x 1 H₂O

12,0 ml	Eisessig (20°C)
120,0 g	Natriumazetat x 3 H ₂ O
34,0 g	Natriumhydroxyd

Diese Lösung wird mit Aqua dest. auf 1000,0 ml aufgefüllt und mit einigen Tropfen Toluol versetzt.

4 m Perchlorsäure:

143,51 g einer 70 %igen Perchlorsäure werden mit Wasser auf 250,0 aufgefüllt.

p-Dimethylaminobenzaldehydlösung:

20,0 g p-Dimethylaminobenzaldehyd werden in 200,0 ml Methylglykol (Äthylenglykolmonomethyläther) gelöst.

3,362 Bestimmung des Hydroxyprolins

Die unter 3,354 angegebenen Lösungen von Achillessehnen- und Mitralklappengewebe wurden zur Hydroxyprolinbestimmung weiterverarbeitet:

Nach Zugabe von 1,0 ml Chloramin-T-Lösung wurde das Gemisch geschüttelt und bei Raumtemperatur 20 min stehen gelassen. Nach Zugabe von 2,0 ml 4 m Perchlorsäure wurde wieder geschüttelt und die Lösung 5 min stehen gelassen. Die Reaktion lief nach Zugabe von 1,0 ml p-Dimethylaminobenzaldehyd 15 min bei 60°C im Wasserbad. Danach wurde die Reaktion in kaltem Wasser abgestoppt. Die Messung der Extinktionen erfolgte bei $\lambda = 580 \text{ nm}$ und 1 cm Schichtdicke im Spektralphotometer PMQ II (Zeiss, Oberkochen).

Aus der Eichkurve (Abb. 1) wurde die Hydroxyprolinmenge pro ml untersuchter Lösung abgelesen und diese Werte auf 100 mg Trockensubstanz des untersuchten Materials umgerechnet. Diese Werte wurden dann mit 7,46 (Korrelationsfaktor von Hydroxyprolin zu Kollageneiweiß; NEUMANN und LOGAN 1950) multipliziert. Hieraus ergibt sich annähernd die Kollageneiweißmenge.

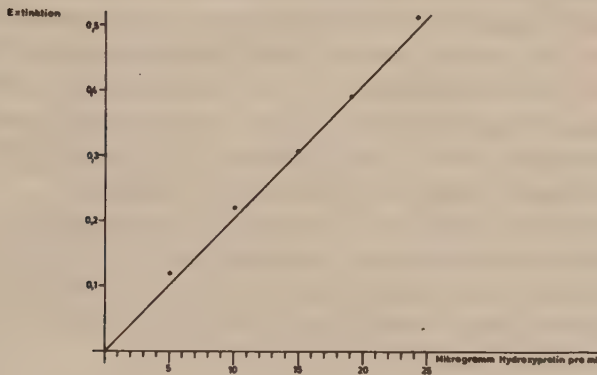


Abb. 1: Beispiel für eine Eichkurve. Beziehung zwischen Extinktion und μg l-Hydroxyprolin pro ml.

3,4 Bestimmung der spezifischen inneren Oberfläche

Unter spezifischer innerer Oberfläche, bzw. tatsächlicher Oberfläche einer Substanz (Osp.) versteht man die gesamte Oberfläche der molekularen Struktur dieser

Substanz, deren Größe vom Grad der Vernetzung der Molekülketten abhängt. Die Untersuchungen zur Bestimmung der spezifischen inneren Oberfläche wurden an der Trockensubstanz von 2 Mitralklappen durchgeführt (8 Monate altes Kind, 84 Jahre alter Mann). Die Messungen wurden dankenswerterweise von der Firma Leybold in Köln mit dem Gerät "Areatron" durchgeführt. Dabei wird die zu untersuchende Probe in einem Glasgefäß unter Vakuum durch Ausheizung entgast. In dieses Glasgefäß wird langsam Argon eingelassen. Dieses Gas lagert sich in einer monomolekularen Schicht der Moleküloberfläche der zu untersuchenden Substanz an. Die zur Auffüllung dieser Monoschicht benötigte Gasmenge stellt einen Parameter für die Oberflächengröße dar, die das Gerät in m^2/g anzeigt. Aufgrund der Meßwerte können in Zusammenhang mit physikalisch-optischen Dichtemessungen verschiedene Parameter der submikroskopischen Struktur des Herzklappengewebes nach Formeln von HEIDEMANN und RIESS (1964) berechnet werden.

3.5 Berechnung des Durchmessers der kollagenen Fibrillen

Der Durchmesser der kollagenen Fibrillen errechnet sich nach folgender Formel:

$$d = 2r = 2 \frac{2}{D \times \text{Osp.}} \times 10^8 \left[\overset{\circ}{\text{\AA}} \right]$$

$$d = \text{Durchmesser} \quad \left[\overset{\circ}{\text{\AA}} \right]$$

$$r = \text{Radius} \quad \left[\overset{\circ}{\text{\AA}} \right]$$

$$D = \text{Dichte} \quad \left[\frac{\text{g}}{\text{cm}^3} \right]$$

Osp. = spezifische innere Oberfläche

$$= \left[\frac{\text{m}^2}{\text{g}} = \frac{10^4 \text{ cm}^2}{\text{g}} \right]$$

3,6 Berechnung des Volumens des Tropokollagenmoleküls

Für die Berechnung des Volumens des Tropokollagenmoleküls gilt die Formel:

$$V = \frac{G}{D} \times 10^{24} \left[\text{\AA}^3 \right]$$

$$V = \text{Volumen} \left[\text{cm}^3 \right] = 10^{24} \left[\text{\AA}^3 \right]$$

$$G = \text{Gewicht} \left[\text{g} \right]$$

Dabei geht man davon aus, daß nach chemischer Analyse 1000 Aminosäuren auf eine der jeweils 3 Polypeptidketten des Tropokollagenmoleküls entfallen. Damit läßt sich das Molekulargewicht pro Polypeptidkette nach der Aminosäurezusammensetzung berechnen. Dividiert man das Molekulargewicht durch die Loschmidtsche Zahl, dann erhält man das absolute Gewicht einer Polypeptidkette mit $1,608 \times 10^{-19} \text{ g}$ oder des Tropokollagenmoleküls mit $3 \times 1,608 \times 10^{-19} \text{ g}$.

3,7 Berechnung der Querschnittsfläche des Tropokollagenmoleküls

Das Tropokollagenmolekül kann man mit der Form eines Zylinders vergleichen, so daß sich die Querschnittsfläche des Tropokollagenmoleküls mit folgender Formel berechnen läßt:

$$F = \frac{V}{l} \left[\text{\AA}^2 \right]$$

F = Fläche

V = Volumen

l = Länge des Tropokollagenmoleküls = 2800 $\text{\AA}$

3,8 Berechnung des Durchmessers des Tropokollagenmolekülquerschnittes

Der Durchmesser des Tropokollagenmolekülquerschnittes läßt sich nach folgender Formel berechnen:

$$2r = d = 2 \sqrt{\frac{F}{\pi}} \quad \left[\overset{\circ}{\text{Å}} \right]$$

$$r = \text{Radius} \quad \left[\overset{\circ}{\text{Å}} \right]$$

$$F = \text{Fläche} \quad \left[\overset{\circ}{\text{Å}}^2 \right]$$

$$d = \text{Durchmesser} \quad \left[\overset{\circ}{\text{Å}} \right]$$

$$\pi = \text{Konstante} = 3,14$$

4,0 Ergebnisse

4,1 Umfang und Gewicht der Mitralklappe

Der Umfang der Mitralklappe nimmt etwa bis zum 20. Lebensjahr entsprechend dem Wachstum des Herzens zu. Die Mitralklappe hat vom 20. Lebensjahr an einen durchschnittlichen Umfang, der zwischen 9 und 11 cm liegt (Abb. 2, Abb. 3).

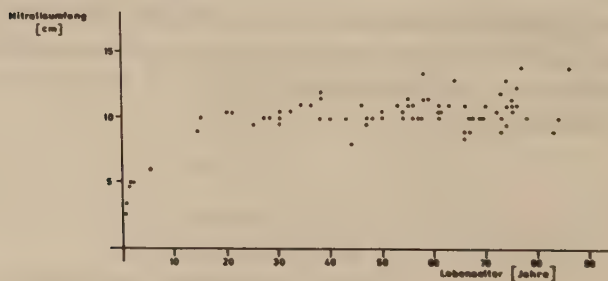


Abb. 2: Beziehung zwischen dem Lebensalter und dem Umfang der Mitralklappe. [cm] 75 Einzelwerte.

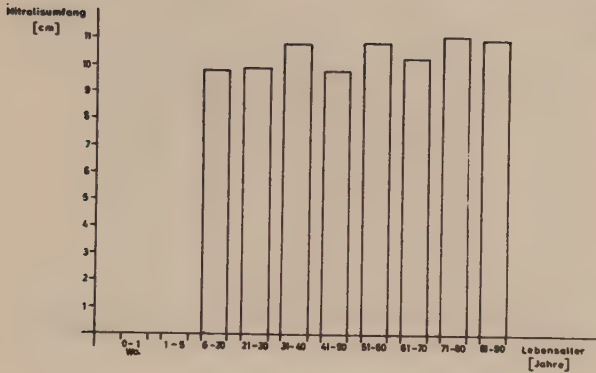


Abb. 3: Beziehung zwischen dem Lebensalter und dem Umfang der Mitralklappe [cm] . Mittelwerte aus 83 Einzelwerten. Die Berechnung des Mittelwertes des Mitralklappenumfanges wurde erst ab dem 6. Lebensjahr vorgenommen, da erst in diesem Alter der Mitralklappenumfang genau bestimmt werden konnte.

Demgegenüber zeigt das Gewicht der Mitralklappe (Abb. 4) einen Anstieg, der zwischen der Altersgruppe von 0 - 5 Jahren und 6 - 20 Jahren schnell erfolgt, dann aber weiterhin kontinuierlich bis zum 40. Lebensjahr anhält. Vom 40. Lebensjahr an bleibt das Gewicht der Mitralklappe nahezu konstant.

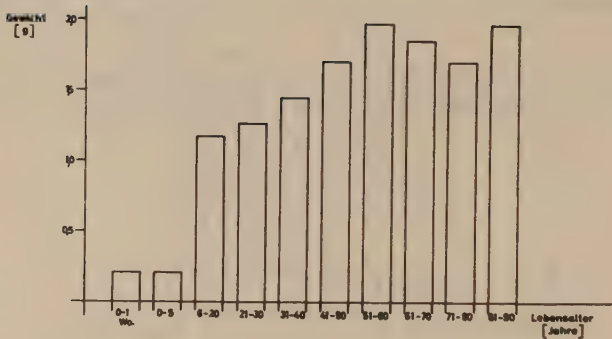


Abb. 4: Beziehung zwischen dem Lebensalter und dem Gewicht der Mitralklappe [g]. Mittelwerte aus insgesamt 128 Einzelwerten.

Der Wassergehalt der Mitralklappe nimmt bis zum 40. Lebensjahr deutlich ab, um für die späteren Lebensabschnitte, aber auch noch bis zum Greisenalter geringfügig abzunehmen (Abb. 5).

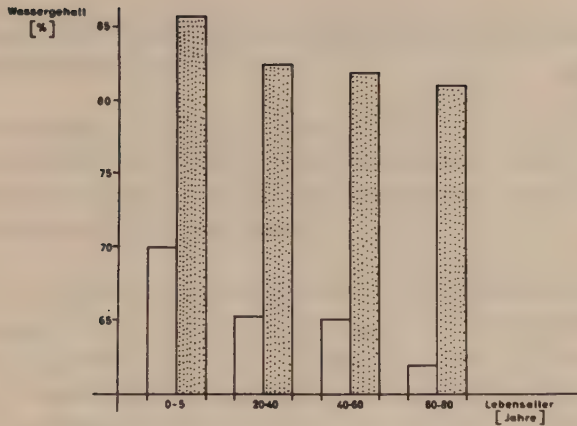


Abb. 5: Beziehung zwischen Lebensalter und Wassergehalt [%] der Mitralklappe im Vergleich mit Achillessehnen.

Weiße Säulen: Achillessehnen (129 Einzelwerte).

Punktierte Säulen: Mitralklappen (128 Einzelwerte),

Der Vergleich zwischen Abb. 4 und Abb. 5 zeigt, daß die Gewichtszunahme der Mitralklappe durch eine Trockensubstanzvermehrung erfolgen muß. Dies geht auch aus Abb. 6 hervor, in der die absoluten Trockengewichtsmengen der Mitralklappe in Abhängigkeit vom Lebensalter dargestellt wurden.

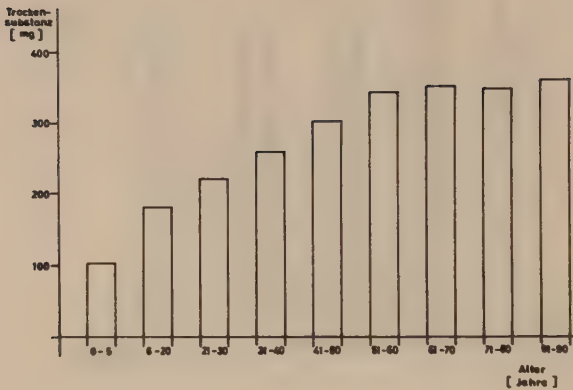


Abb. 6: Beziehung zwischen Lebensalter und Trocken-substanzmenge der Mitralklappe [mg] . (Mittel-werte aus insgesamt 128 Einzelwerten).

Insgesamt zeigen diese Befunde, daß etwa vom 20. - 40. Lebensjahr im wesentlichen eine Dickenzunahme der Mitralklappe erfolgt, da das Gewicht noch weiter ansteigt, der Umfang der Mitralklappe aber nicht mehr zunimmt.

4,2 Morphologie der Mitralklappe (mikroskopische Untersuchungsbefunde)

Serienschnitte von Mitralklappen (Dicke: $8\ \mu$) eines 71-jährigen Mannes, einer 55-jährigen Frau und eines drei Jahre alten Kindes wurden an gleichen Stellen mikroskopisch untersucht.

Aus diesen Untersuchungsbefunden läßt sich der altersabhängige mikroskopisch nachweisbare Strukturwandel genau darstellen. Die Mitralklappe (Abb. 7,8 und 9), die im Querschnitt verschiedene Schichten zeigt, wird mit zunehmendem Alter dicker (s. Abb. 7). Die Dickenzunahme betrifft aber nicht alle Schichten der Herzklappe gleichmäßig. Am meisten bleibt die Dicke der Sehnenfaserplatte konstant (s. Abb. 7c, 9c). Die Anordnung der kollagenen Faserbündel ändert sich jedoch. Während beim Kleinkind die Sehnenfaserbündel scheren-gitterartig angeordnet sind (Abb. 7b), sind sie beim Erwachsenen parallel angeordnet (Abb. 8b u. Abb. 9b). Die stärksten Veränderungen sieht man in der elastisch-muskulären Schicht. Die Menge der elastischen Fasern nimmt ab. Aus parallel angeordneten elastischen Fasern (Abb. 7c) wird ein aufgesplittertes elastisches Fasernetz (Abb. 9c). Dagegen nimmt in dieser Schicht die Menge der glatten Muskelfasern erheblich zu (vergleiche Abb. 7c u. Abb. 9c).

Es erfolgt in der elastisch-muskulären Schicht der Mitralklappe also eine Verminderung wie sie altersabhängig auch als Phrysiosklerose in den Venen abläuft.

Abbildung 7

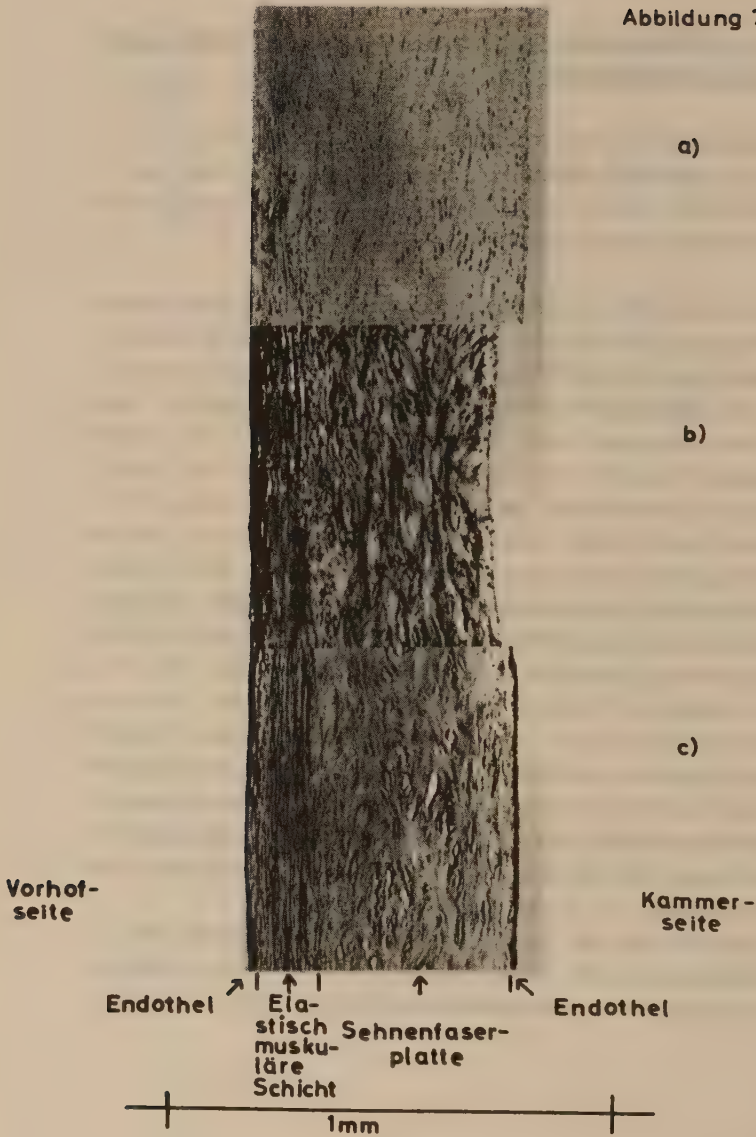


Abb. 7: Serienschritte der Mitralklappe eines 3-jährigen Kindes. Schnittdicke: 8μ , Vergrößerung ca. 102fach.
a = Hämatoxylin-Eosin-Färbung
b = van Gieson-Färbung
c = Elastica-Färbung

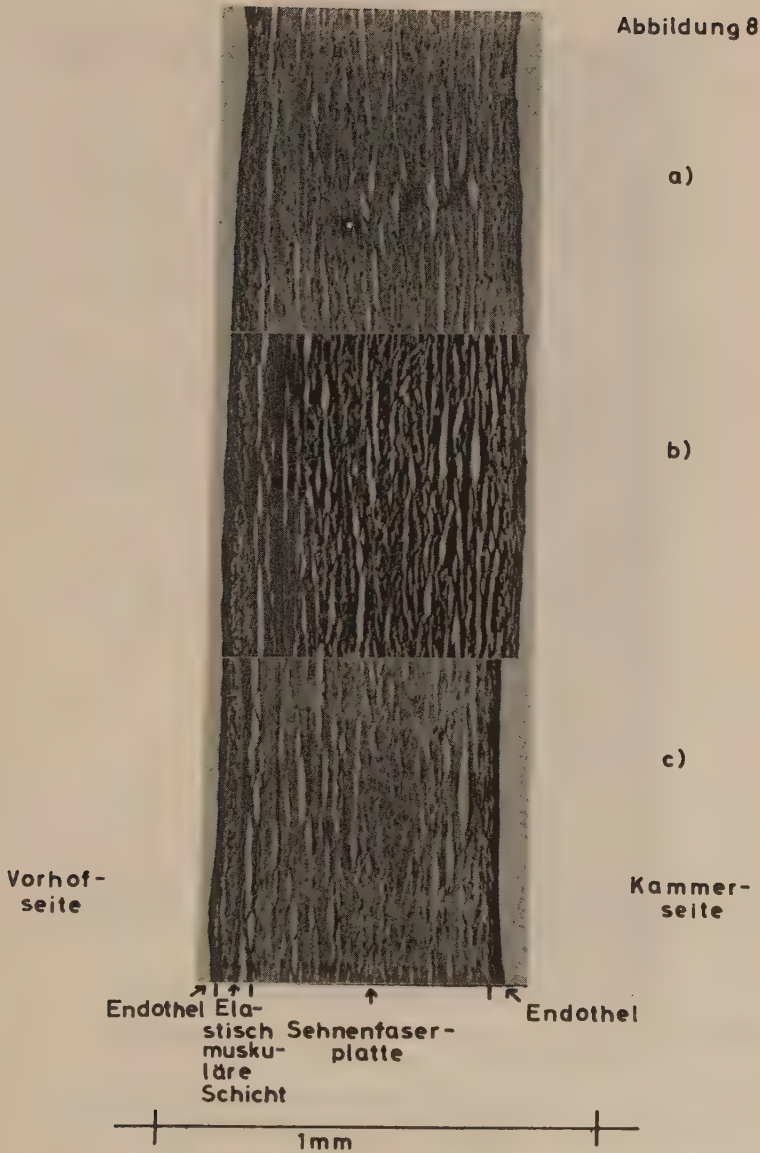


Abb. 8: Serienschritte der Mitralklappe einer 55-jährigen Frau. Schnittstärke: 8 μ , Vergrößerung ca. 102 fach.
a = Hämatoxylin-Eosin-Färbung
b = van Gieson-Färbung
c = Elastica-Färbung

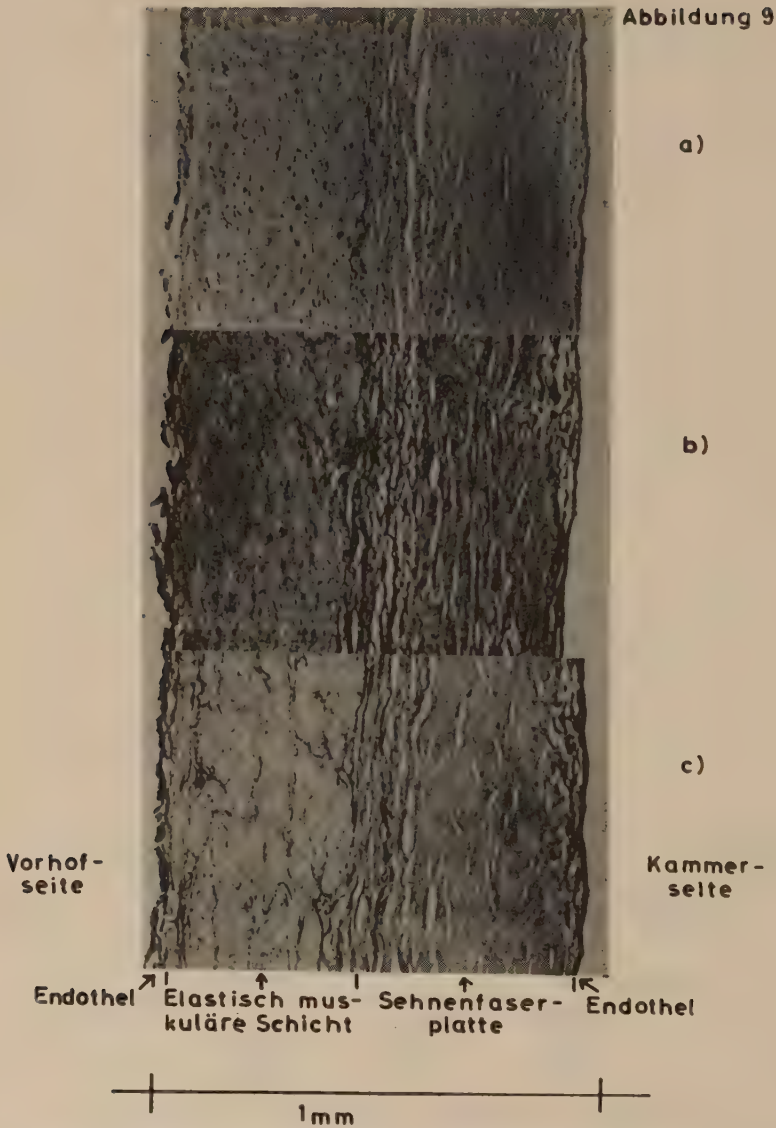


Abb. 9: Serienschnitte der Mitralklappe eines 71-jährigen Mannes. Schnittdicke: 8 μ , Vergrößerung ca. 102fach.
a = Hämatoxylin-Eosin-Färbung
b = van Gieson-Färbung
c = Elastica-Färbung

4,3 Gehalt der Mitralklappen an Kollageneiweiß

In Abb. 10 wird der prozentuale Gehalt der Herzklappen an Kollageneiweiß mit dem von Achillessehnen verglichen. Aus dieser Darstellung geht hervor, daß besonders innerhalb der ersten Lebensjahre (bis zum 5. Lebensjahr) eine relativ starke Vermehrung des Kollageneiweiß in der Gewichtseinheit erfolgt.

Vom 5. - 40. Lebensjahr kommt es zu einer weiteren, allerdings nur noch geringfügigen Zunahme der Kollageneiweißmenge pro Gewichtseinheit. Vom 40. Lebensjahr an bleibt die Kollageneiweißmenge, von Schwankungen abgesehen, weitgehend konstant.

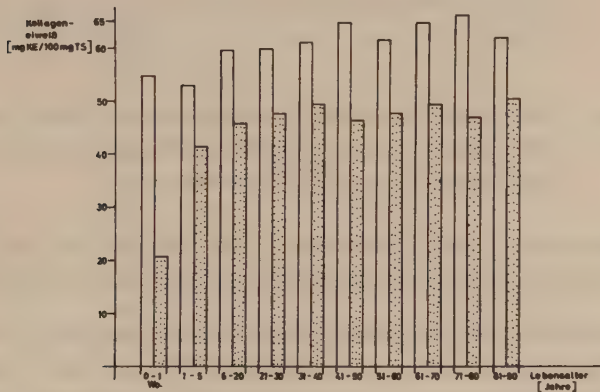


Abb. 10: Beziehung zwischen Lebensalter und prozentualem Kollagengehalt in Mitralklappen- und Achillessehnengewebe.

Weiße Säulen: Achillessehnen.

Punktierte Säulen: Mitralklappen.

Das Gesamtkollageneiweiß steigt in der Altersgruppe von 6 - 20 Jahren stark an, um mit fortschreitendem Lebensalter kontinuierlich zuzunehmen (Abb. 11).

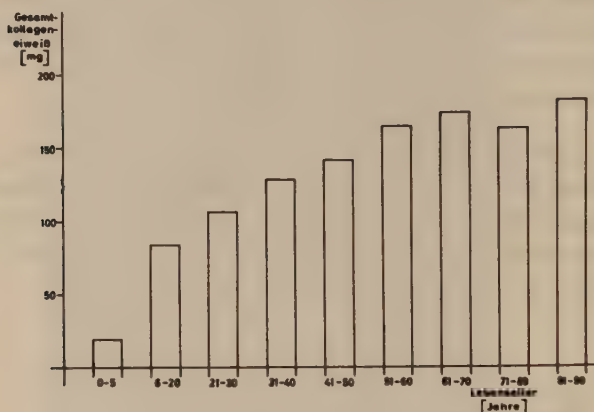


Abb. 11: Beziehung zwischen Gesamtkollageneiweiß [mg] der Mitralklappe in Abhängigkeit vom Lebensalter. Mittelwerte aus 128 Einzelwerten.

Der prozentuale Kollageneiweißgehalt ist nur in der Wachstumsperiode des Herzens abhängig vom Herzgewicht (Abb. 12).

Nach Abschluß der Wachstumsperiode, wenn das Herz sein Normalgewicht von 300 g erreicht hat, zeigt der prozentuale Kollageneiweißgehalt in den Mitralklappen relativ große Schwankungen, ist aber weitgehend unabhängig vom Herzgewicht. Selbst bei extremen Herzhypertrophien konnte ein prozentualer Kollageneiweißgehalt in den Mitralklappen nachgewiesen werden, der dem von normalgewichtigen Herzen entspricht.

Zwischen dem Gesamtkollagengehalt der Mitralklappe und dem Herzgewicht besteht dagegen eine nahezu lineare Beziehung (Abb. 13).

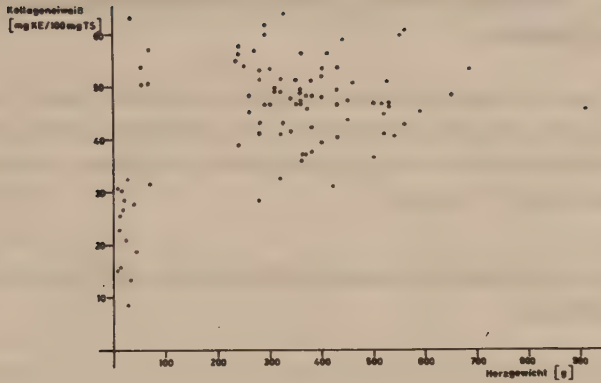


Abb. 12: Beziehung zwischen Herzgewicht [g] und dem prozentualen Gehalt an Kollagenprotein. 93 Einzelwerte.

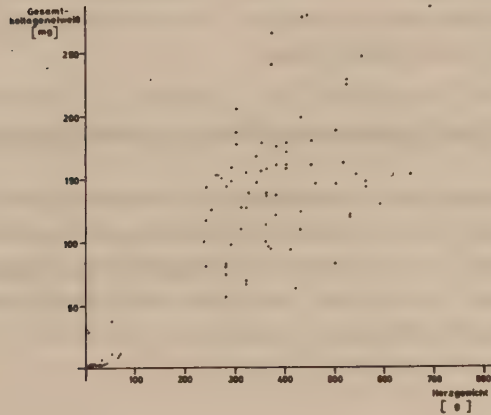


Abb. 13: Beziehung zwischen Gesamtkollagenprotein [mg] und dem Herzgewicht [g]. 93 Einzelwerte.

4,4 Makromolekulare Strukturveränderungen in den Mitralklappen

Über die makromolekularen Strukturveränderungen des Kollagens gibt das Verhalten der löslichen Kollageneiweißfraktionen und physikalische Messungen am Mitralklappengewebe Auskunft.

4,41 Lösliche Kollageneiweißfraktion nach thermischer Kontraktion

Die lösliche Kollageneiweißfraktion, die nach thermischer Kontraktion aus Mitralklappengewebe freigesetzt werden kann, nimmt während des Lebens ständig ab. Die stärkste Abnahme erfolgt in dem Lebensabschnitt zwischen der 1. Lebenswoche und dem 5. Lebensjahr. Danach ist die Abnahme weitaus geringer (Abb. 14). Verglichen mit Achillessehnen ist die lösliche Fraktion nach thermischer Kontraktion in allen Lebensabschnitten in den Mitralklappen aber höher als in Achillessehnen von entsprechend alten Individuen.

4,42 Essigsäurelösliche Fraktion des Kollageneiweiß

Der Vergleich der essigsäurelöslichen Fraktion des Kollageneiweiß in Mitralklappen zwischen Individuen der Altersgruppe 0 - 5 Jahre und 60 - 80 Jahre zeigt, daß bei jüngeren Individuen bedeutend mehr Kollageneiweiß mit 0,1 %iger Essigsäure (pH 3,3) zu lösen ist, als bei älteren Individuen (Abb. 15).

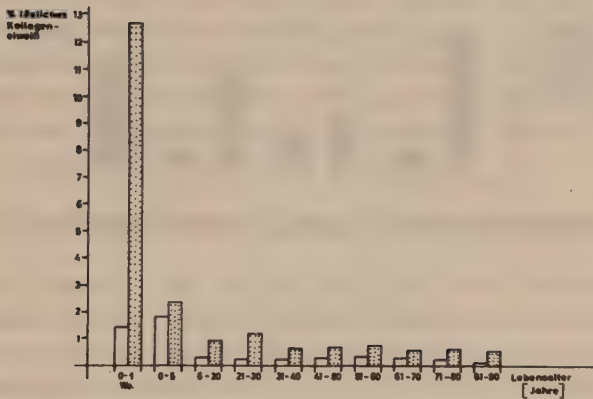


Abb. 14: Beziehung zwischen dem Lebensalter und der löslichen Kollageneiweißfraktion in [%] (nach thermischer Kontraktion) zum Gesamtkollagengehalt des Mitralklappengewebes.
Weiße Säulen: Achillessehnen.
Punktierte Säulen: Mitralklappen.

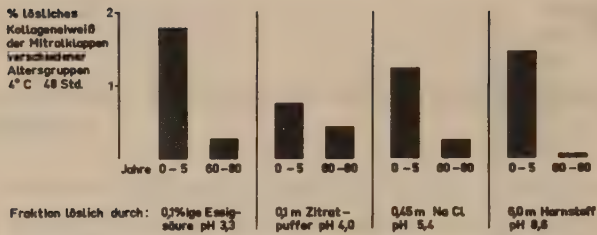


Abb. 15: Vergleich der Menge an Kollageneiweiß aus Mitralklappengewebe, die mit 0,1 %iger Essigsäure (pH 3,3), mit 0,1 m Zitratpuffer (pH 4,0), mit 0,45 m NaCl-Lösung (pH 5,4) und mit 6,0 m Harnstoff (pH 8,6) gelöst werden kann bei einer Gruppe von 0 - 5 jährigen Personen und einer Gruppe von 60 - 80 Jahre alten Individuen.

4,43 Zitratlösliche Fraktion des Kollageneiweiß

Auch die zitratlösliche Fraktion des Kollageneiweiß zeigt ein ähnliches Verhalten wie die essigsäurelösliche Fraktion (Abb. 15). Bei 0 - 5-jährigen Individuen läßt sich mit dieser Methode aus den Mitralklappen und Achillessehnen mehr Kollagen herauslösen als bei 60 - 80 Jahre alten Personen. In den Mitralklappen ist wieder mehr Kollageneiweiß löslich als in den entsprechenden Achillessehnen (Abb. 15).

4,44 NaCl-lösliche Fraktion des Kollageneiweiß

Die Befunde, die bei der NaCl-löslichen Fraktion erhoben wurden, zeigen ein ähnliches Bild. Die NaCl-lösliche Fraktion des Kollageneiweiß von Mitralklappen- und Achillessehnengewebe liegt bei 0 - 5-jährigen Individuen höher als bei 60 - 80-jährigen Personen.

4,45 Harnstofflösliche Fraktion des Kollageneiweiß

Auch die harnstofflösliche Fraktion des Kollageneiweiß liegt bei 0 - 5-jährigen Individuen höher als bei 60 - 80 Jahre alten Personen. In dem Mitralklappengewebe ist wieder mehr Kollageneiweiß löslich als in dem entsprechenden Achillessehnengewebe (Abb. 15, Abb. 16).

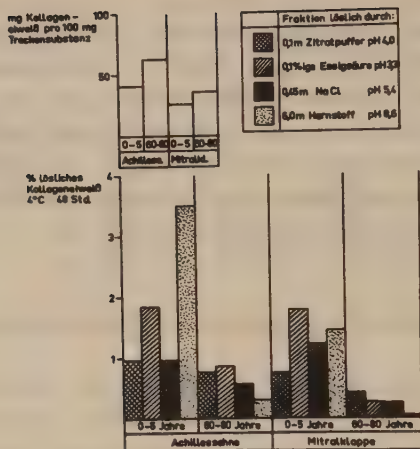


Abb. 16: Vergleich der Menge von Kollageneiweiß aus Mitralklappen- und Achillessehnengewebe, die mit 0,1 %iger Essigsäure (pH 3,3), mit 0,1 m Zitratpuffer (pH 4,0), mit 0,45 m NaCl-Lösung (pH 5,4) und mit 6,0 m Harnstoff (pH 8,6) gelöst werden kann bei einer Gruppe von 0 - 5 Jahren alten und einer Gruppe von 60 - 80 Jahre alten Personen.

4,46 Bestimmung der spezifischen inneren Oberfläche
der Dichte und des Fibrillendurchmessers des Tropo-
kollagenmoleküls

Diese Untersuchungen wurden an 2 Herzklappen vorgenommen. Es handelte sich um das Mitralklappengewebe von einem 8 Monate alten Kind und einem 84-jährigen Mann. Die Ergebnisse sind in Tab. 3 dargestellt.

Die spezifische innere Oberfläche (s. auch unter 3,4) ist bei dem Kind etwa doppelt so groß wie bei dem Erwachsenen. Die Dichte, die gemessen wurde, lag bei dem Kind bei $1,13 \text{ g/cm}^3$ und bei dem Erwachsenen bei $1,55 \text{ g/cm}^3$.

Aus diesen Daten läßt sich der durchschnittliche Fibrillendurchmesser berechnen (s. Methodik 3,4 bis 3,8). Es zeigte sich, daß die Fibrillendurchmesser bei alten Menschen größer sind als beim Kind. Das Volumen der Tropokollagenmoleküle ist jedoch kleiner als im Kindesalter. Diese Volumenverkleinerung ist bedingt durch eine Verkleinerung des Durchmessers der Tropokollagenmoleküle. Dadurch müssen bei größerer Dichte beim alten Menschen die Tropokollagenmoleküle enger aneinanderrücken.

4.5 Der DNS-Gehalt der Bindegewebszellen im Mitralklappengewebe

Untersuchungen an Achillessehngewebe zeigten, daß Sehnenzellen während der stärksten Kollageneiweißsynthese polyploid werden und daß sich nach Abschluß der Kollageneiweißsynthese die Zellkerne heterochromatisieren (ERVIG 1968). Es wurde auch an einigen Mitralklappen der DNS-Gehalt der Bindegewebszellen gemessen.

Bei einem 5 Monate alten Kind fand sich nur eine Population von Zellkernen, deren DNS-Gehalt dem diploiden Wert entsprach (Abb. 17). Bei einem 81-jährigen Mann wurden Zellkerne gemessen, die einmal ähnlich wie bei dem Kind dem diploiden Wert entsprachen (Abb. 17).

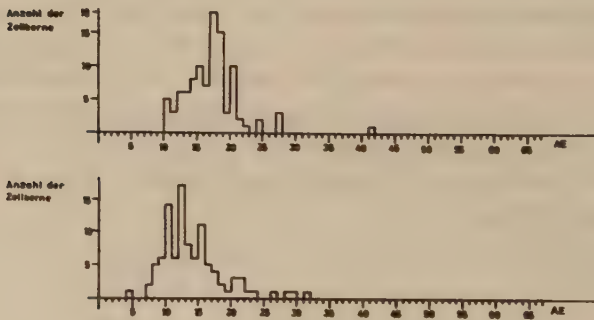


Abb. 17: Beziehung zwischen Arbeitseinheiten (AE) und Anzahl der Zellkerne bei einem 5 Monate alten Kind (Oberer Teil der Abbildung) und vergleichsweise bei einem 81-jährigen Mann (Unterer Teil der Abbildung).

Zum anderen fanden sich jedoch auch bei dem 81-jährigen Mann Zellkerne, die tetraploid waren und sogar einen größeren DNS-Gehalt als es dem tetraploiden entsprach, zeigten (Abb. 18).

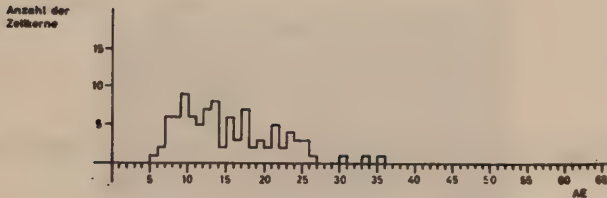


Abb. 18: Beziehung zwischen Arbeitseinheiten (AE) und Anzahl der Zellkerne bei einem 81-jährigen Mann (chromatindichte Zellkerne).

Vergleicht man die gemessenen DNS-Werte mit der Zellkernfläche, dann zeigte sich, daß die tetra- und polyploiden Zellkerne bei dem älteren Individuum kleiner waren, als die diploiden Zellkerne des Kindes. Das bedeutet, daß es neben der Vermehrung der DNS pro Zellkern zu einer Konzentrationserhöhung der DNS im Zellkern gekommen ist, also eine Chromatinverdichtung eingetreten ist (Abb. 19).

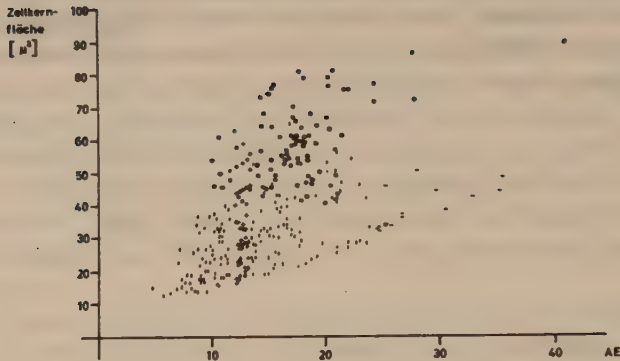


Abb. 19: Beziehung zwischen den gemessenen DNS-Werten (in AE) und der Zellkernfläche.

Zeichenerklärung:

- +++ = diploide Zellkerne eines 81-jährigen Mannes
- = tetra- und polyploide Zellkerne eines 81-jährigen Mannes
- ■ ■ = aneuploide Zellkerne eines 81-jährigen Mannes
- △ △ △ = aneuploide Zellkerne eines 5 Monate alten Kindes
- ... = diploide Zellkerne eines 5 Monate alten Kindes

Die erwähnte Chromatinverdichtung ist auch auf photographischen Aufnahmen solcher Zellkerne erkennbar. Die Zellkerne im Herzklappengewebe des Kindes haben eine runde oder ovale Form (Abb. 20). Das Chromatin ist relativ locker angeordnet. Im Herzklappengewebe von älteren Menschen sind die Zellkerne spindelförmig gestaltet (Abb. 21). Das Chromatin ist innerhalb dieser Zellkerne außerordentlich dicht gepackt, so daß eine homogene Struktur dieser Zellkerne entsteht.

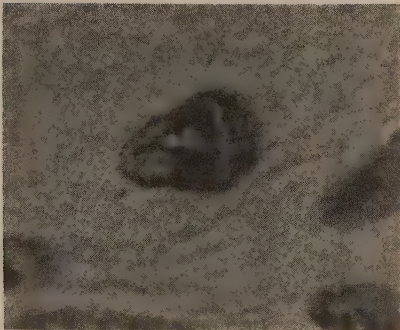
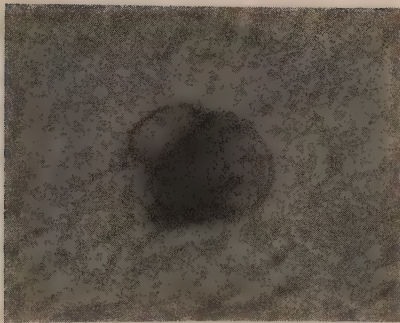


Abb. 20: Serienschritte gleicher Schnittrichtung von Bindegewebszellkernen aus der Mitralklappe eines 5 Monate alten Kindes. (Feulgenfärbung in der Modifikation nach SWIFT, 1955, Schnittdicke 6 μ , Vergrößerung ca. 2015 fach).

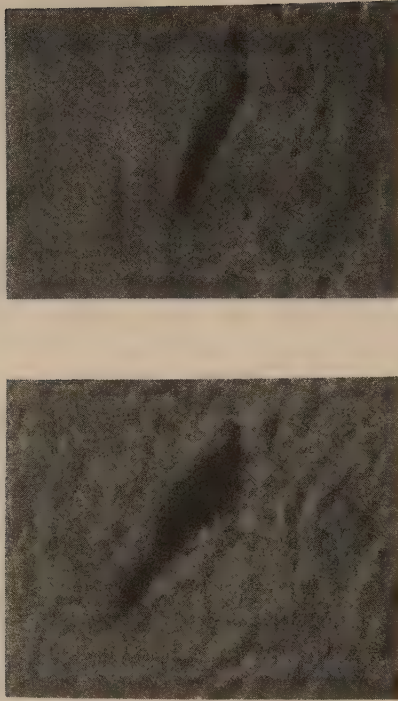


Abb. 21: Serienschritte gleicher Schnittrichtung von Bindegewebszellkernen aus der Mitralklappe eines 81-jährigen Mannes. (Feulgenfärbung in der Modifikation nach SWIFT 1955, Schnittdicke 6 μ , Vergrößerung ca. 2015 fach).

5.0 Diskussion

Aufgrund der vorliegenden Untersuchungsergebnisse kann zu zwei Fragen Stellung genommen werden:

1. zur Veränderung der kollagenen Fasern in den Herzklappen und
2. zur Veränderung der Zellkernstruktur in Abhängigkeit vom Lebensalter.

5.1 Altersabhängige Veränderungen der kollagenen Fasern

Das Kollageneiweiß der Herzklappen unterliegt ebenso wie das Kollagen anderer Binde- und Stützgewebe einem Alterungsprozeß. BÜRGER (1961) vermutete, daß die Herzklappen, da sie als relativ dünne Gewebsformationen ständig im Blutstrom flottieren, diesem Alterungsprozeß nicht unterworfen sind. Das Kollageneiweiß in den Herzklappen nimmt prozentual bis zum 40. Lebensjahr zu. Dies ist erklärbar durch eine Abnahme anderer Bestandteile der Herzklappen, wie zum Beispiel der sauren Mukopolysaccharide (TRNAVSKY und Mitarbeiter 1965) und der Abnahme des Wassergehaltes. Durch diese Änderung der Zusammensetzung verändert sich auch die Dichte des Herzgewebes. Sie wird mit steigendem Lebensalter höher (MÜLLER 1967). Im Makromolekularbereich kommt es zu einer Zunahme der Dicke der kollagenen Fibrillen. Dies konnte durch die vorliegenden Untersuchungen nachgewiesen werden, deren Ergebnisse gut mit den elektronenmikroskopisch erhobenen Befunden übereinstimmen (HARTMANN und Mitarbeiter 1962). Innerhalb der verdickten kollagenen Fibrillen sind aber offensichtlich die Protofibrillen dichter gepackt, was wahrscheinlich durch eine Abnahme des Durchmessers der Tropokollagen-

moleküle ermöglicht wird. Damit ergibt sich in stärkerem Maße die Tendenz zur Ausbildung kovalenter chemischer Bindungen innerhalb und zwischen den Tropokollagenmolekülen. Diese Annahme läßt sich durch die verringerte Löslichkeit mit den chemischen Methoden und mittels der thermischen Kontraktion, sowie der Bestimmung der spezifischen inneren Oberfläche nachweisen.

Diese molekularen Strukturveränderungen in den Herzklappen drücken sich auch im lichtmikroskopischen Bild aus. Mit steigendem Lebensalter kommt es zu lichtmikroskopischen Strukturveränderungen, die als "Fibrose" bezeichnet wurden (ANGRIST 1964 und POMERANCE 1967). Aufgrund der neueren Untersuchungen erscheint es fraglich, ob die Fibrose der Herzklappen älterer Menschen wie BÖHMIG 1953 aufgrund lichtmikroskopischer Untersuchungen vermutete, Folge einer sogenannten serösen Endokarditis ist. Er nahm an, daß sie in einem relativ hohen Prozentsatz beim Menschen auftritt. Da die gewonnenen Ergebnisse an den Herzklappen nahezu identisch sind mit den altersabhängigen Veränderungen des Kollageneiweiß anderer Lokalisationen, muß vielmehr angenommen werden, daß die "Fibrose" älterer Herzklappen altersbedingt ist.

5.2 Veränderungen an den Zellkernen

Das Gewebe der Mitralklappen hat einen ähnlichen mikroskopischen Bau wie Sehngewebe. Es zeichnet sich wie dieses dadurch aus, daß in einer relativ kurzen Lebensspanne die größte Kollageneiweißmenge synthetisiert wird und dann nur noch ein geringerer Umsatz erfolgt.

Da am Achillessehnengewebe nachgewiesen werden konnte (ERVIG 1968), daß während stärkster Kollageneiweißsynthese die DNS-Menge vermehrt wird (Polyploidisierung) und somit das Verhältnis DNS zu Kollageneiweiß konstant bleibt, war es naheliegend anzunehmen, daß ähnliche Beziehungen an den Herzklappen bestehen. Es konnte nachgewiesen werden, daß Bindegewebszellkerne der Mitralklappe polyploid werden. Es ist zu vermuten, daß diese Polyploidisierung während der stärksten Kollageneiweißsynthese auftritt. Im Gegensatz zu den Sehnengewebszellen werden jedoch nicht alle Bindegewebszellkerne der Herzklappen polyploid. Es konnte weiter nachgewiesen werden, daß nach Abschluß der stärksten Kollageneiweißsynthese sich in den polyploidisierten Herzklappenbindegewebszellen das Chromatin verdichtet, also eine Heterochromatisierung eintritt. Diese Untersuchungen zeigen, daß Beziehungen zwischen der Zellkernstruktur und der zellulären Produktion von Kollageneiweiß bestehen.

6,0 Zusammenfassung

Die Untersuchungen des Bindegewebes und der Bindegewebszellkerne menschlicher Mitralklappen im Vergleich zu Achillessehnengewebe führten zu folgenden Ergebnissen:

Der Umfang der Mitralklappe nimmt etwa bis zum 20. Lebensjahr zu, um dann weitgehend konstant zu bleiben. Zwischen dem 20. und dem 40. Lebensjahr erfolgt nur noch eine Dickenzunahme der Herzklappen, ihr Umfang ändert sich nicht mehr wesentlich. Dagegen zeigt das Gewicht der Mitralklappe einen schnellen Anstieg in den Altersgruppen von 0 - 5 und 6 - 20 Jahren, der sich bis zum 40. Lebensjahr verlangsamt und dann bei steigendem Lebensalter annähernd gleichbleibt.

Der Gewichtsanstieg ist durch eine Trockensubstanzvermehrung bedingt. Der Wassergehalt der Herzklappe vermindert sich bis zum 40. Lebensjahr deutlich. Er nimmt aber auch noch bis zum Greisenalter geringfügig ab.

Nach abgeschlossener Wachstumsperiode zeigt der prozentuale Kollageneiweißgehalt des Mitralklappenbindegewebes eine weitgehende Unabhängigkeit vom Herzgewicht. Der prozentuale Kollageneiweißgehalt der Herzklappen nimmt mit steigendem Alter zu. Vom 40. Lebensjahr an bleibt aber die Kollagenmenge nahezu konstant. Mit zunehmendem Alter zeigt die durch thermische Kontraktion freigesetzte lösliche Kollageneiweißmenge eine ständige Abnahme. Ebenso verhalten sich die säure- und salzlöslichen Kollageneiweißfraktionen. Die nach thermischer Kontraktion lösliche Fraktion sowie die säure- und salzlöslichen Fraktionen des Kollageneiweiß des Mitralklappengewebes zeigen aber in allen Lebensabschnitten höhere Werte als in Achillessehnengewebe von entsprechend alten Personen.

Die spezifische innere Oberfläche wird mit zunehmendem Alter kleiner und gleichzeitig erfolgt eine Dichtezunahme des Gewebes. Der Durchmesser der kollagenen Fibrillen ist beim alten Menschen größer als beim Kind. Das Volumen der Tropokollagenmoleküle ist jedoch bei alten Individuen kleiner als bei jüngeren Personen. Diese Befunde deuten daraufhin, daß im Alter vermehrt inter- und intramolekulare kovalente Bindungen infolge dichter Protokollagenpackung auftreten.

Zytophotometrische Untersuchungen an Bindegewebszellkernen von Mitralklappen jüngerer und älterer Personen ließen den Schluß zu, daß während einer verstärkten Kollageneiweißsynthese sich die Zellkerne polyploidisieren. In diesen polyploidisierten Bindegewebszellkernen tritt eine Chromatinverdichtung ein, so daß eine Beziehung zwischen Zellkernstruktur und zellulärer Produktion von Kollageneiweiß angenommen werden kann.

7,0 Tabellenanhang

Tab. 3: Spezifische innere Oberfläche und Dichte des Herzklappenbindegewebes des Menschen (vergleichsweise von einem 8 Monate alten Kind und einem 84-jährigen Mann) und die daraus errechenbaren Größen über die molekulare Struktur des Kollagens

Alter	Einwaage	Ausheiztemperatur	Spezifische innere Oberfläche	Dichte	Fibrillen- durchmesser	Volumen des Tropo- kollagen- moleküls	Fläche des Tropo- kollagen- quer- schnittes	Durchmes- ser des Tropokol- lagenmole- küls	Abstand der Achsen der Tropokollagen- moleküle
	[g]		$\left[\frac{m^2}{g} \right]$	$\left[\frac{g}{cm^3} \right]$	$\left[\frac{\circ}{A} \right]$	$\left[\frac{\circ^3}{A} \right]$	$\left[\frac{\circ^2}{A} \right]$	$\left[\frac{\circ}{A} \right]$	$\left[\frac{\circ}{A} \right]$
8 Monate	0,0234	50°C	50,5	1,13	700	$4,269 \times 10^5$	149,3	13,78	13,09
84 Jahre	0,0652	50°C	23,0	1,55	1120	$3,110 \times 10^5$	108,8	11,02	10,47

Tab. 4: Mittelwerte $\bar{X}$ und Streuungen S der Untersuchungsergebnisse der Achillessehnen

Alter [Jahre]	Wassergehalt der Achillessehne	Gesamtkollagenei- weiß	%lösliche Kolla- geneiweiß im Überstand
	[%]	[mg KE/100mg TS]	
Neugeborene	$\bar{x} = 75,4327$ $S = \pm 6,5619$	$\bar{x} = 54,8256$ $S = \pm 10,8236$	$\bar{x} = 1,4158$ $S = \pm 0,8172$
0 - 5	$\bar{x} = 65,7914$ $S = \pm 16,4843$	$\bar{x} = 52,9299$ $S = \pm 10,8326$	$\bar{x} = 1,5272$ $S = \pm 1,2767$
6 - 20	$\bar{x} = 59,9000$ $S = \pm 3,0560$	$\bar{x} = 59,5643$ $S = \pm 1,6886$	$\bar{x} = 0,2772$ $S = \pm 0,0565$
21 - 30	$\bar{x} = 65,3529$ $S = \pm 2,9646$	$\bar{x} = 59,7999$ $S = \pm 10,2367$	$\bar{x} = 0,2133$ $S = \pm 0,1998$
31 - 40	$\bar{x} = 66,3046$ $S = \pm 2,2366$	$\bar{x} = 61,0034$ $S = \pm 1,3340$	$\bar{x} = 0,2230$ $S = \pm 0,1303$
41 - 50	$\bar{x} = 65,2290$ $S = \pm 2,7941$	$\bar{x} = 64,8436$ $S = \pm 10,9277$	$\bar{x} = 0,2745$ $S = \pm 0,1161$
51 - 60	$\bar{x} = 64,9330$ $S = \pm 3,6402$	$\bar{x} = 61,5553$ $S = \pm 2,9907$	$\bar{x} = 0,3345$ $S = \pm 0,2054$
61 - 70	$\bar{x} = 61,4587$ $S = \pm 5,3428$	$\bar{x} = 64,7887$ $S = \pm 4,8354$	$\bar{x} = 0,2957$ $S = \pm 0,1680$
71 - 80	$\bar{x} = 62,5100$ $S = \pm 3,0906$	$\bar{x} = 61,1287$ $S = \pm 5,9220$	$\bar{x} = 0,2263$ $S = \pm 0,1485$
81 - 90	$\bar{x} = 64,1760$ $S = \pm 2,4793$	$\bar{x} = 62,0669$ $S = \pm 2,4471$	$\bar{x} = 0,1165$ $S = \pm 0,1536$

Tab. 5: Mittelwerte $\bar{x}$ und Streuungen S der Untersuchungsergebnisse der Mitralklappe

Alter [Jahre]	Herzgewicht [g]	Umfang der Mitralklappe [cm]	Gewicht der Mitralklappe [g]	Wassergehalt Mitralklappe [%]	Gesamtkollagen- eiweiß [mgKE/100mgTS]	%lösliches Kollageneiweiß im Überstand
Neugeborene	$\bar{x}=16,6300$ $S=+9,0093$	./.	$\bar{x}=0,2052$ $S=+0,2667$	$\bar{x}=84,8180$ $S=+1,8014$	$\bar{x}=20,9293$ $S=+7,3042$	$\bar{x}=12,7315$ $S=+7,7718$
0 - 5	$\bar{x}=47,5500$ $S=+16,7590$	./.	$\bar{x}=0,2029$ $S=+0,1886$	$\bar{x}=86,7390$ $S=+2,4001$	$\bar{x}=41,7048$ $S=+15,5794$	$\bar{x}=2,3460$ $S=+1,3895$
6 - 20	$\bar{x}=320,0000$ $S=+40,0000$	$\bar{x}=9,8330$ $S=+0,7630$	$\bar{x}=1,1789$ $S=+0,1335$	$\bar{x}=84,5120$ $S=+1,2210$	$\bar{x}=45,9769$ $S=+4,7011$	$\bar{x}=0,9127$ $S=+0,5052$
21 - 30	$\bar{x}=338,5710$ $S=+64,1420$	$\bar{x}=9,9850$ $S=+0,3380$	$\bar{x}=1,2699$ $S=+0,4116$	$\bar{x}=82,5080$ $S=+1,4140$	$\bar{x}=47,8100$ $S=+10,6860$	$\bar{x}=1,2643$ $S=+1,3850$
31 - 40	$\bar{x}=330,0000$ $S=+70,9120$	$\bar{x}=10,8570$ $S=+0,7470$	$\bar{x}=1,4498$ $S=+0,4745$	$\bar{x}=82,3133$ $S=+1,9459$	$\bar{x}=49,5154$ $S=+5,5220$	$\bar{x}=0,6435$ $S=+0,3569$
41 - 50	$\bar{x}=326,5000$ $S=+65,9140$	$\bar{x}=9,8750$ $S=+0,8750$	$\bar{x}=1,7032$ $S=+1,3686$	$\bar{x}=81,6180$ $S=+2,7523$	$\bar{x}=46,7220$ $S=+8,6990$	$\bar{x}=0,6876$ $S=+0,7408$
51 - 60	$\bar{x}=410,3570$ $S=+96,8040$	$\bar{x}=10,9583$ $S=+1,0103$	$\bar{x}=1,9697$ $S=+0,6535$	$\bar{x}=82,0300$ $S=+2,8270$	$\bar{x}=48,0360$ $S=+5,3139$	$\bar{x}=0,7469$ $S=+0,3716$
71 - 80	$\bar{x}=467,1430$ $S=+132,2107$	$\bar{x}=11,1071$ $S=+1,3890$	$\bar{x}=1,6935$ $S=+0,4705$	$\bar{x}=81,0314$ $S=+2,1396$	$\bar{x}=47,0194$ $S=+6,4882$	$\bar{x}=0,6334$ $S=+0,1539$
81 - 90	$\bar{x}=450,000$ $S=+102,9500$	$\bar{x}=11,0000$ $S=+2,6450$	$\bar{x}=1,9471$ $S=+0,5784$	$\bar{x}=81,6440$ $S=+2,7793$	$\bar{x}=50,6113$ $S=+0,9944$	$\bar{x}=0,5653$ $S=+0,3145$

Tab. 6: Mittelwerte X und Streuungen S der säure- und salzlöslichen Fraktionen des Kollageneiweiß

	Alter [Jahre]	Gesamtkollagen- eiweiß [mg KE/100mg TS]		Zitratlösliche Fraktion	Essigsäure- lösliche Frak- tion	Natriumchlorid- lösliche Frak- tion		Harnstofflös- liche Fraktion
		$\bar{x}$	S			$\bar{x}$	S	
Mitral- klappen	0 - 5	$\bar{x} = 32,030$		$\bar{x} = 0,740$	$\bar{x} = 1,780$	$\bar{x} = 1,210$		$\bar{x} = 1,400$
		$S = \pm 9,050$		$S = \pm 0,611$	$S = \pm 0,910$	$S = \pm 1,340$		$S = \pm 0,811$
	60 - 80	$\bar{x} = 36,880$		$\bar{x} = 0,325$	$\bar{x} = 0,233$	$\bar{x} = 0,263$		$\bar{x} = 0,031$
		$S = \pm 3,860$		$S = \pm 0,620$	$S = \pm 0,398$	$S = \pm 0,462$		$S = \pm -$
Achilles-	0 - 5	$\bar{x} = 41,200$		$\bar{x} = 0,959$	$\bar{x} = 1,838$	$\bar{x} = 1,000$		$\bar{x} = 3,490$
		$S = \pm 10,820$		$S = \pm 0,418$	$S = \pm 1,387$	$S = \pm 0,434$		$S = \pm 1,830$
sehnen	60 - 80	$\bar{x} = 65,560$		$\bar{x} = 0,791$	$\bar{x} = 0,833$	$\bar{x} = 0,583$		$\bar{x} = 0,333$
		$S = \pm 2,870$		$S = \pm 0,364$	$S = \pm 0,586$	$S = \pm 0,213$		$S = \pm 0,118$

8,0 Literaturverzeichnis

v. ALBERTINI, A.

Pathologie des Endokard
in Bargmann, W. und W.

DOERR

Das Herz des Menschen
Stuttgart: Thieme 1963, 603-643

BASHEY, R.O.; S. TORII and A. ANGRIST

Age-Related Collagen and Elastin Content
of Human Heart Valves
J. Geront 22 (1967) 203-208

BENEKE, G.; W. SANDRITTER; W. SCHMITT; R. KULKA

Altersveränderungen menschlicher Herzklappen
Med. Welt 18 (NF) 1967, 1795-1802

BENEKE, G.; O. ENDRES

Morphologische und physikalisch-optische
Untersuchungen an Achilles- und Patellarsehnen
Virchows Arch.path.Anat. 340 (1965) 137-150

BENNINGHOFF, A.

Blutgefäße und Herz
in: v. Möllendorf W., Hdb. mikrosk. Anat. Mensch
IV 1, 1-232

BOEDTKER, H.; P. DOTY

On the nature of the structural elements of
collagen
J. Amer. Chem. Soc. 77 (1955) 248-250

BÖHMIG, R. und P. KLEIN

Pathologie und Bakteriologie der Endokarditis
Springer Verlag 1953

BÜRGER, M.

Chemische Alterswandlungen menschlicher Herz-
klappen
Münch. med. Wschr. 104, (1962) 2146-2149

BÜRGER, M. und D. LOHMANN

Lebenswandlungen (Biomorphose) des gesunden
menschlichen Herzens und ihre Beziehungen zum
Alter und zum Geschlecht
in: Bargmann W. und W. Doerr: Das Herz des
Menschen
Stuttgart Thieme 1963, 412-421

CERIOTTI, G.

Determination of nucleic acids in animal tissues
J. biol. Chem. 214, (1955) 59-70

COHEN, C.

Optical rotation and helical polypeptide chain
configuration in collagen and gelatin
J. biophys. biochem. Cytol. 1, (1955) 203-214

ENDRES, O.

Morphologische, histochemische und physikalisch-
optische Untersuchungen an menschlichen Sehnen
Inaug. Diss. Giessen, 1963

ERVIG, K.

Untersuchungen über das Wachstum und die Rege-
neration der Achillessehne des Kaninchens (Zell-
kernstrukturänderung in Beziehung zur Funktion der
Sehnenzelle)
Inaug. Diss. Giessen 1968

FEULGEN, R. und H. ROSSERBECK

Mikroskopisch-chemischer Nachweis einer
Nukleinsäure vom Typus der Thymonukleinsäure
und die darauf beruhende elektive Färbung von
Zellkernen im mikroskopischen Präparat
Z. physiol. Chem. 135 (1924) 203-248

HARTMANN, F.; R. FRICKE; S. ROEHR

Dicke und Packung der Kollagenfibrillen in Herz-
klappen nach Endocarditis rheumatica
Z. Rheumaforsch. 21, (1962) 34-41

HEIDEMANN, E.; W. RIESS

Veränderungen des Kollagens bei Entwässerung mit
Aceton und die Konsequenzen dieser Veränderung
für die Kollagenstruktur
Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 337 (1964) 101-113

JACKSON, D.S., and J.P. BENTLEY

On the significance of extractable collagen
J. biophys. biochem. Cytol. 7, (1960) 37-42

KOMPMANN, M.; J. PADDOGS and W. SANDRITTER

Feulgen Cytophotometric DNA Determinations on
Human Hearts
Arch. Path. 82 (1966) 303-308

KROHN, P.L.

Topics in the Biology of Aging
New York, London, Sidney: John Wiley u. Sons, 1966

KÜHNEL, W.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen über den
unterschiedlichen Bau der Herzklappen.
I. Mitteilung: Mitralis und Aortenklappe
Z. Zellf. 69, (1966) 452-473

KÜHNEL, W.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen über den unterschiedlichen Bau der Herzklappen
II. Mitteilung: Tricuspidalis und Pulmonalklappe
Z. Zellf. 72, (1966) 462-474

KUNKEL, A. und F. PRAKKE

Morphologie und Feinbau der kollagenen Faser
Biochem. Z. 267 (1933) 243-295

LILLIE, R.D.

Histopathologic Technic and Practical Histochemistry New York, Toronto, London: The Blakiston Division, Mc. Graw-Hill Book Company 1953

Mc. MILLAN; M. LEV

The aging heart
J. Geront. 14, (1959) I. Endocardium 268-283

Mc. MILLAN, J.B. and M. LEV

The aging heart
J. Geront. 19, (1964) II. The valves

MERKER, H.J.; A. JAHNKE; M. HOFFMANN

Wachstum und Altern des Bindegewebes
Berl. Med. Festschrift 1958

MÖHRING, W.

Veränderungen der Sehnenfäden der Mitralklappe in Abhängigkeit vom Lebensalter und bei Herz-erkrankungen
Inaug. Diss., Giessen 1967

MÜLLER, D.

Physikalisch-optische Untersuchungen an menschlichen Papillarsehnen der Mitralklappe des Herzens
Inaug. Diss., Giessen 1966

NEUMANN, R.E.; M.A. LOGAN

The determination of the hydroxyproline
184, (1950) 299-306 J. Biol. Chem.

NEUMANN, R.E.; M.A. LOGAN

The determination of collagen and elastin
in tissues
J. Biol. Chem. 186, (1950) 549-556

NORDSCHOW, C.D.

Aspects of aging in human collagen
An exploratory thermoelastic study
Exper. Molec. Path. 5, (1966) 350-373

POMERANCE, A.

Ageing changes in human heart valves
Brit. Heart J. 29, (1967) 222-231

RAUSKOLB, R.

Untersuchungen zur Methodik der Bestimmung von
Hydroxyprolin im Sehnengewebe
Inaug. Diss. Giessen 1967

ROSENTHAL, J. and J. FEIGIN

Pathology of the mitral valves in the older
age groups
Amer. Heart J. 33, (1947) 346-361

SANDRITTER, W.

Methodik der Cytophotometrie im sichtbaren und
ultravioletten Licht
Fol. morph. 12 (1961) 147-167

SANDRITTER, W.

DNS-bestimmungen mittels der Cytophotometrie
im ultravioletten Licht
Acta histochem. Suppl. VI., (1965) 253-254

SANDRITTER, W.

Ultraviolettspektrophotometrie
in: Hdb. der Histochemie, Bd. 1, 220-338
Fischer, Stuttgart 1958

SCHWARZ, W.

in Hauss, W.H. und H. Hosse: Struktur und Stoff-
wechsel des Bindegewebes
Thieme, Stuttgart (1960), 106-130

SCHMITT, F.O. und A.J. HODGKE

Das Tropokollagenmakromolekül und die Eigenschaften
seiner geordneten Aggregationsform
Leder 11, (1960) 74-91

STEGEMANN, H.

Mikrobestimmung von Hydroxyprolin mit Chloramin-T
und p-Dimethylaminobenzaldehyd
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 311, (1958) 41-45

SWIFT, H.

Cytochemical Techniques for Nucleic Acids
The Nucleic Acids, New York: Academic Press 2,
(1955) 51-92

THIRIOT, K.B.

Physikalisch-optische Untersuchungen der Sehnen-
fäden der Mitralklappe
Inaug. Diss. Giessen 1967

TRNAVSKY, K.; S. KOPECKY; Z. TRNAVSKA and L. CEBECAUER
Influence of Age on Biochemical Composition
of the Mitral
Gerontologia 11, (1965) 169-178

VERZAR, F.

Nachweis der Zunahme der Bindung von Hydroxy-
prolin im Kollagen der Haut mit dem Alter
Gerontologia 4, (1960), 104-111

VERZAR, F.

Experimentelle Gerontologie
Stuttgart Enke, 1965

VERZAR, F. und A. MEYER

Chemische Veränderungen von Kollagenfäden während
der thermischen Kontraktion
Gerontologia 5, (1961) 163-175

Herrn Professor Dr. G. Beneke danke ich für die
Überlassung des Themas und für die Anregungen,
die er dieser Arbeit gewidmet hat.

9.0 Lebenslauf

Am 7. September 1942 wurde ich in Braunau (Sudetenland) als Tochter des Konditors Erwin Teuber und dessen Ehefrau Elisabeth geboren.

Im Herbst 1949 wurde ich in Aschersleben (Kreis Halle/Saale) eingeschult und besuchte dort acht Jahre die Volksschule und ein Jahr (bis Oktober 1958) die Oberschule. Nach der Flucht aus Mitteldeutschland besuchte ich von 1959 bis 1963 das Lottegymnasium in Wetzlar und legte dort im Frühjahr 1963 die Reifeprüfung ab.

Im Sommersemester 1963 begann ich mit dem Medizinstudium an der Justus Liebig-Universität Gießen. Ich legte die naturwissenschaftliche (20. April 1964) und die ärztliche (28. September 1965) Vorprüfung ebenfalls an dieser Fakultät ab.

Für das Wintersemester 1968 meldete ich mich zur Ablegung der ärztlichen Prüfung und beendete diese am 24. Januar 1969 in Gießen.

